

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی شیراز

دانشکده دندانپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکترای تخصصی پرئودانتیکس

عنوان:

مقایسه استریولوژیک و هیستولوژیک تغییرات بافتی و اثر القایی بافت همبند قابل تزریق نسج کراتینیزه با و بدون فاکتور رشدی فیروبلستی (FGF) در کراتینیزاسیون مخاط غیر کراتینیزه دهان خرگوش

اساتید راهنما:

دکتر سعید دکامی

استادیار گروه پرئودانتیکس دانشکده دندانپزشکی شیراز

دکتر علی نورافشان

دانشیار گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی شیراز

استاد مشاور:

دکتر محمدجواد اشرف

استادیار گروه پاتولوژی دانشکده پزشکی شیراز

نگارش:

دکتر حمیدرضا شیربانی

۱۰۳۱۸۲

بنام خدا

ارزیابی پایان نامه

پایان نامه شماره ۹۷۴ در رشته تخصصی پرودانتیکس

تحت عنوان:

مقایسه استریولوژیک و هیستولوژیک تغییرات بافتی و اثر القایی بافت همبند قابل

تزریق نسج کراتینیزه با و بدون فاکتور رشدی فیبروبلاستی (FGF) در

کراتینیزاسیون مخاط غیر کراتینیزه دهان خرگوش.

توسط :

دکتر حمیدرضا شیربانی در تاریخ ۱۳۸۷/۳/۲۰ در کمیته بررسی پایان نامه مطرح و  
با نمره ۱۹/۹ و درجه بسیار به تصویب رسید.

نظر اساتید محترم راهنما:

۱-جناب آقای دکتر سعید دکامی

۲-جناب آقای دکتر علی نورافشان

۳-جناب آقای دکتر محمدجواد اشرف

هیات داوران:

۱-

۲-

۳-

۴-

۵-

۶-

تقدیم به اساتید ارجمند:

جناب آقای دکتر سعید دکامی

جناب آقای دکتر علی نورافشان

که صبورانه و با دقت نظر مرا در تحقیق و تهیه این پایان نامه یاری نمودند. همواره دانش و  
آموخته هایم را از رهنمودهای ارزنده و زحمات بی شائبه شان می دانم.

**و با تقدیم، نهایت تشکر و قدردانی از استاد گرانقدر:**

جناب آقای دکتر محمد جواد اشرف، که با دقت در خور تحسین و مشاوره ارزشمند خود مرا در انجام مراحل این تحقیق یاری و همراهی نمودند.

با تقدیم و صمیمانه ترین سپاس ها از :

اساتید محترم بخش پرودونتیکس دانشکده دندانپزشکی شیراز که در تمام دوران تحصیل

از راهنمایی ها ارزشمند و مساعدت های بیدریغشان بهره مند بوده ام.

تقدیم به روح بزرگوار پدرم

تقدیم به مادر خستگی ناپذیرم

به پاس کوشش ها و مهربانی شان

تقدیم به برادر و خواهرانم:

که همواره مرا مورد لطف و عنایت خود قرار داده اند.

تقدیم به همسر صبور و مهربانم:

دکتر فیروزه شهرکی

که با نهایت فداکاری و تحمل مشکلات در تمام مراحل یاورم بود.

تقدیم به فرزند دلبندم:

ارشیا

که مظهر زندگی و تجلی امید به آینده است.



## با تشکر و قدردانی از:

کمیته محترم ارزیابی، که همواره توفیق روز افزون این عزیزان را از درگاه یزدان مسئلت دارم.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
<b>فصل اول:</b>	
۱	چکیده
۶	مقدمه
<b>فصل دوم:</b>	
۱۸	مرور مقالات
۱۸	تاریخچه پیوندهای بافت نرم
<b>فصل سوم:</b>	
۳۰	لته چسبنده و مخاط آلونول
۳۴	دلایل کمبود یا فقدان لته چسبنده
۳۵	اهمیت لته چسبنده
۴۱	تکنیکهای جراحی جهت افزایش عرض لته چسبنده
۴۲	بافت همبندی
۵۴	پیوند آزاد لته
۵۷	مراحل ترمیم پیوند آزاد لته
۵۸	پیوند آزاد بافت همبند
۶۲	موارد تجویز و عدم تجویز پیوند آزاد بافت همبند
۶۳	منابع بافت پیوندی
۶۵	مراحل ترمیم پیوند آزاد بافت همبند
<b>فصل چهارم:</b>	
۷۱	فاکتورهای رشدی
۷۱	فاکتور رشدی فیبروبلاستی (FGF)
<b>فصل پنجم:</b>	
۹۷	ارایه روش تحقیق
۹۷	اهداف تحقیق
۹۷	مواد و روش تحقیق
۹۸	روش جراحی
۹۹	تهیه محلول هموزن

۱۰۰.....	تزریق محلول هموزن
۱۰۰.....	تزریق فاکتور رشدی
۱۰۱.....	تهیه بیوپسی و رنگ آمیزی
۱۰۲.....	بررسی هیستولوژیک و استریولوژیک
۱۰۸.....	بررسی آماری
۱۰۸.....	روش های رنگ آمیزی

#### فصل ششم:

۱۱۲.....	یافته ها و نتایج تحقیق
۱۱۳.....	تغییرات بافت همبند
۱۱۸.....	تغییرات اپی تلیوم

#### فصل هفتم:

۱۲۹.....	بحث و نتیجه گیری
----------	------------------

#### فصل هشتم:

۱۴۲.....	تصاویر کلینیکی و هیستولوژیک
----------	-----------------------------

#### فصل نهم:

۱۴۷.....	منابع
۱۵۷.....	Abstract

## چکیده

عرض لثه کراتینیزه و پهنای لثه چسبنده از معیاری مهم کلینیکی محسوب می شوند، عرض لثه چسبنده برابر با فاصله بین محل تلاقی مخاط با لثه تا برآمدگی سطح خارجی کف سالکوس یا پاکت پریودنتال می باشد و عرض لثه کراتینیزه مجموع عرض لثه چسبنده و لثه مارژینال را شامل می گردد. اهمیت و نقش لثه کراتینیزه در حفظ و تداوم سلامتی پریودونشیوم مورد تاکید قرار گرفته و به عنوان عاملی جهت محافظت بافتهای زیرین در برابر تجمع پلاک و نفوذ باکتری و محصولات پلاک باکتریایی شناخته شده است.

نشان داده شده است که در غیاب لثه چسبنده کافی و یا متعاقب حذف کامل آن در حین جراحی، بافتهای باقی مانده یعنی مخاط آلوثول دچار چین خوردگی و چروکیدگی شده و به درمان جراحی پاسخ مناسبی نخواهند داد، به علاوه مخاط آلوثول توانایی مقاومت در برابر نیروهای مضع و (Oral Physiotherapy) را به دلیل ماهیت بافتی سست و متحرک دارا نیست.

تحقیقات نشان داده است که وجود یک نوار (Band) حداقل از لثه چسبنده جهت بهبود حذف پلاک در اطراف مارژین لثه و جهت حفظ سلامت پریودونشیوم در پاره ای از موارد، در تعیین پروگنوز درمانهای پریودنتالی مهمترین راهنما و معیار تشخیصی محسوب می گردد.

در حال حاضر لزوم وجود مقدار کافی لثه کراتینیزه، در درمانهای پریودنتال (جراحی موکوژنژیوال ، GTR و ...) و ریج های بی دندانی به عنوان بستر پروتزهای (Tissue Support) و خصوصاً اطراف ایمپلنت های دندانی جهت تحمل نیروهای اکوزالی و فشار دنچر و جلوگیری از فروپاشی بافتهای حمایت کننده مورد تاکید و توافق عمومی است.

از جمله روشهای افزایش لثه کراتینیزه می توان به پیوند آزاد لثه ( Free gingival graft) و پیوند آزاد بافت همبند (Free connective tissue graft) اشاره نمود که در همه این روشهای جراحی ، هم در ناحیه دهنده و هم در ناحیه گیرنده زخم و آسیب بافتی بوجود می آید که برای التیام کامل آنها زمانی طولانی لازم است و ناراحتی و عدم رضایت بیماران را در پی دارد.

بدلیل دشواری تکنیک جراحی متداول و عدم استقبال مناسب بیماران ، ابداع روشهای ساده تر و قابل پذیرش تر منطقی بنظر می رسد.

از آنجایی که بر طبق مطالعات انجام شده ، در القای کراتینیزاسیون اپی تلیوم و تغییر ماهیت بافتی در پیوندها، حیات (Vitality) سلولهای بافت همبند مهم نبوده و ظاهراً نقش اصلی و اساسی را ماده زمینه ای (Ground Substance) ایفا می کند، لذا انتظار می رود هموژنیزه کردن و تزریق آن به ناحیه گیرنده هم، همان نتایج را در پی داشته باشد و می توان با استفاده از فاکتورهای رشدی نتایج حاصل از آن تقویت کرد.

این روش دارای مزایایی است که عبارتند از:

۱- نیاز به تهیه Bed جراحی که قسمت اصلی و مشکل تکنیکهای جراحی است را مرتفع می سازد.

۲- به دلیل عدم نیاز به ایجاد Bed راحتی و پذیرش بیمار بیشتر بوده و می توان همزمان چندین ناحیه را تحت درمان قرار داد.

۳- زمان جراحی بسیار کوتاه تر بوده و دوره ترمیم (Healing) زخم بعد از جراحی بدلیل بهبود زخم ناحیه دهنده با (Primary Healing) سریعتر سپری خواهد شد.

این مطالعه بر روی ۲۰ خرگوش آلبینوی نر که از لحاظ، نژاد و بلوغ شرایط یکسانی داشتند انجام شد. حیوانات به ۴ گروه، ۱- کنترل، ۲- گروه بافت همبند هموژنیزه قابل تزریق، ۳- گروه فاکتور رشدی فیبروبلاستی (FGF)، ۴- گروه بافت همبند هموژنیزه توام با کاربرد فاکتور رشدی فیبروبلاستی، تقسیم شدند. توسط جراحی از ناحیه کام سخت بافت همبندی به ابعاد تقریبی (۵×۵) بدون اپی تلیوم پوشاننده تهیه شد. پس از هموژنیزه کردن نسج در داخل سرم فیزیولوژی استریل، محلول حاصل در گروه آزمایش ۲ و ۴ در ناحیه مشخص زیر اپی تلیوم تزریق گردید. در گروه سوم، فقط در ناحیه مشابه، فاکتور رشدی فیبروبلاستی (FGF) (0.1 µg/kg) و در گروه چهارم پس از تزریق جزء همبندی قابل تزریق هموژن در نواحی تحت آزمایش به مدت ۱۰ روز متوالی مقدار (0.1 µg/kg) تزریق فاکتور (FGF) صورت گرفت. پس از ۳ ماه از

نواحی تزریق در هر ۴ گروه نمونه برداری انجام شد و در بررسی هیستولوژیک هیچگونه شواهدی مبنی بر ایجاد آبسه و التهاب و نکروز در ۴ گروه مشاهده نگردید. بررسی نتایج مشخص نمود که دانسیته تعداد «تعداد سلول در واحد حجم بافت همبند» فیبروبلاستها در گروه ۲ و ۴ افزایش آماری معنی داری نشان داده است ( $p < 0.05$ ). همچنین دانسیته حجمی کلاژن، «حجم اشغال شده توسط کلاژن در واحد حجم بافت همبند» در لامینا پروپریا هم در گروههای ۲ و ۴ افزایش چشمگیری داشت که این اختلاف با گروههای کنترل و FGF به تنهایی از نظر آماری معنی داری می نمود.

همچنین افزایش دانسیته سطحی (Sv) اپی تلیوم (مساحت سطح درونی و سطح بیرونی اپی تلیوم در واحد حجم) و مساحت سطحی بیرونی (Surface Roughness) و سطح درونی اپی تلیوم مخاط آلونول در واحد سطح، در گروههای ۲ و ۴ مشاهده شد که از لحاظ آماری معنی دار بود، که دلیلی بر افزایش رت پگها (Rete Peg) و تغییر ماهیت و ساختار بافتی اپی تلیوم است.

علاوه بر این متوسط ضخامت اپی تلیوم در گروه ۲ و ۴ افزایش قابل ملاحظه معنی داری را نشان داد که با توجه به افزایش خشونت سطحی اپی تلیوم، می توان نتیجه گرفت که تغییر خصوصیات بافتی اپی تلیوم هم راستا با شواهدی از کراتینیزاسیون، به نفع گرایش به سمت بافت کراتینیزه با استحکام بیشتر می باشد.

افزایش دانسیته تعداد فیبروبلاستها و دانسیته حجمی کلاژن، در بافت همبند گروه‌های ۲ و ۴ بیانگر وجود بافت همبندی متراکم (Dense) و فیبروزه تری است که توانایی تحمل نیروهای بیشتری را داراست و تغییر ماهیت و ساختار بافتی مخاط آلونول، که بافتی سست و متحرک است به بافت محکم و باقابلیت ارتجاعی بیشتر (Resilient) که از اهداف مطالعه بود، جامعه عمل پوشید و تحقق یافت.

با در نظر گرفتن افزایش تعداد فیبروبلاستها و حجم کلاژن بافت همبند و همچنین افزایش ضخامت اپی تلیوم و Surface Roughness آن که از مشخصات لثه کراتینیزه است، مطالعات بیشتری در این زمینه، خصوصاً جستجوی سیتوکراتین های اختصاصی با تکنیک ایمونوهیستوشیمی جهت بررسی بیشتر خصوصیات اپی تلیوم ضروری بنظر می رسد. همچنین به دلیل رژیم غذایی خاص خرگوش و پتانسیل کراتینیزاسیون پایین در این مدل حیوانی تغییر و انتخاب حیوان آزمایشگاهی با پتانسیل کراتینیزاسیون بیشتر و یا انجام مطالعه بر روی مدل انسانی در آینده (Clinical Trial) پیشنهاد می گردد.



**فصل اول:**

**مقدمه**

## مقدمه

پوشش مرطوب لوله گوارش ، مجاری بینی و حفرات دیگر بدن که با خارج ارتباط دارند غشا مخاطی (Mucous Membrane) ، نامیده می شود. این پوشش در حفره دهان به نام غشاهایی مخاطی دهان یا به اختصار مخاط دهان، (Oral Mucosa) نام دارد. مخاط دهان شامل دو جزء بافتی مجزا و متمایز است که عبارتند از ۱- اپی تلیوم پوشاننده ۲- بافت همبند که در زیر اپی تلیوم قرار دارد، اپی تلیوم مخاط دهان از نوع مطابق سنگفرشی (Stratified Squamous Epithelium) می باشد و به سه نوع پوشاننده، چونده و اختصاصی تقسیم می شود.

مخاط پوششی قسمتی از مخاط دهان است که زیر زبان ، لبها و گونه ها و کف دهان و کام نرم را می پوشاند و قابلیت جابجایی و تحرک دارد، ولی چون در جویدن کارایی ندارد و فرسایشی در آن رخ نمی دهد، اپی تلیوم آن نازک تر از اپی تلیوم مخاط چونده بوده و سطح آن غیر کراتینیزه است و بنابراین دارای سطحی قابل انعطاف بوده و به دلیل دارا بودن الیاف الاستیک فراوان قادر است در برابر کشش مقاومت نماید.

مخاط چونده مناطقی از دهان را که در معرض نیروهای فشاری و چونده هستند، می پوشانند و در طی جویدن غذا در معرض سایش قرار می گیرد این مخاط اجزا غیر متحرکی مانند کام و زواید آلوئول را می پوشاند و خیلی محکم به اجزا زیرین

متصل می شود، اپی تلیوم این مخاط در مقایسه با دیگر مناطق از ضخامت متوسطی برخوردار بوده و اغلب پاراکراتینیزه است، سطح اپی تلیالی این مخاط غیر قابل کشش بوده و در مقابل سایش بخوبی مقاومت دارند.

مخاط سطح پشتی زبان ضمن این که پوششی قابل کشش دارد حاوی انواع مختلفی از پاپیلاهای زبانی نیز هست که از نظر ساختمانی و ظاهری آن را از انواع دیگر مخاط متمایز می سازد و به هیچ جای دیگر حفره دهان شبیه نیست و تحت عنوان مخاط اختصاصی نام گذاری می شود. (۱)

اگر فرایند کراتینیزه شدن به صورت کامل انجام شود به ایجاد یک لایه سطحی شاخی شده، ارتوکراتینیزه مشابه پوست منجر می شود در این حالت در لایه شاخی سلولها فاقد هسته بوده و لایه دانه دار کاملاً واضح و مشخص است، تنها برخی از انواع اپی تلیوم خارجی لثه ارتوکراتینیزه می باشند و بیشتر نواحی لثه توسط اپی تلیوم پاراکراتینیزه پوشیده می شوند. (۲)

لثه چسبنده به دلیل اینکه حاوی مقادیر زیادی الیاف کلاژن است، در مقابل پیشرفت و گسترش التهاب مقاوم تر از مخاط آلونول است. در حالی که برخی از مولفین اظهار داشته اند که عرض لثه کراتینیزه باید بیشتر از ۳ میلی متر باشد، برخی دیگر وجود حداقل یک میلی متر عرض لثه کراتینیزه را کافی دانسته اند. (۳و۴)

گروهی دیگر از محققین اعتقاد دارند که میزان کافی نسج کراتینیزه، هر پهنایی از لثه است که اولاً مارژین لثه را در حرکات مخاط آلوئول از کشش و حرکت محافظت نماید، ثانیاً با سلامتی لثه سازگار باشد. (۵)

Matter و Nabers هم بیان کرده اند که وجود عرض مناسبی از نسج کراتینیزه جهت حفظ سلامت و تداوم بقاء پرپودنشیوم اهمیت دارد. (۱۹۷)

مطالعات متعددی به مقابله با این نظریه (لزوم حداقل از لثه چسبنده برای برقراری سلامت لثه ای)، پرداخته اند، و درمورد این نقطه نظر که لثه چسبنده عریض تر در مقابل تجمع پلاک نسبت به ناحیه نازک و فقدان لثه چسبنده، محافظت کننده تر است را مورد تردید قرار داده اند. (۸)

هیچ حداقل عرضی از لثه چسبنده به عنوان یک استاندارد لازم برای سلامت لثه بیان نشده است. در افرادی که بهداشت دهانی عالی دارند، سلامت لثه حتی بدون لثه چسبنده تامین می شود و بنابراین حضور یا عدم حضور لثه چسبنده جهت حفظ سلامت لثه به طور کلی از اهمیت قطعی برخوردار نیست. به هر حال افرادی که بهداشت دهانی آنها از حد ایده آل پایین تر است، برای اجتناب از مسواک زدن بر روی بافت، به ایجاد لثه کراتینیزه و عمیق کردن وستیبول نیاز دارند. همچنین برای بهبود زیبایی و پوشش سطح ریشه عریان در نواحی قدامی ماگزینا، که دچار تحلیل لثه شده اند افزایش لثه چسبنده ضروری است، به علاوه به وجود ناحیه عریض تری